

Artikel Penelitian

Hubungan Antara Lama Reaksi Suksinilasi dengan Sifat Fungsional Isolat Protein Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.)

*Relationship between Time Reaction and Functional Properties of Physic Nut (*Jatropha Curcas* L.) Protein Isolate*

Miftakhussolikah^{1*}, Chusnul Hidayat², Pudji Hastuti²¹Balai Penelitian dan Teknologi Bahan Alam Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (BPTBA LIPI) Jl. Jogja-Wonosari Km. 31,5 Gading, Playen, Gunungkidul, Yogyakarta²Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, YogyakartaKorespondensi dengan penulis (miftalipi@gmail.com)Artikel ini dikirim pada tanggal 18 April 2016 dan dinyatakan diterima tanggal 16 Juni 2016. Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.jatp.ift.or.id. Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2016

Abstrak

Isolat protein bungkil biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) mempunyai sifat fungsional yang sesuai digunakan sebagai emulsifier, namun kelarutannya rendah pada pH netral. Modifikasi berupa suksinilasi perlu dilakukan untuk meningkatkan sifat fungsional isolat protein biji jarak sebagai emulsifier. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh lama reaksi terhadap sifat fungsional isolat protein biji jarak tersuksinilasi. Pada penelitian ini, suksinilasi dilakukan menggunakan 0,1 g succinic anhydride/g protein selama 30, 60, 90, 120 dan 150 menit. Derajat suksinilasi (DS) ditentukan dengan menentukan gugus amino bebas menggunakan metode trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS). Sifat fungsional yang dikaji meliputi sifat kelarutan, hidrophyl-lipophyl balance (HLB), kapasitas pembentukan emulsi dan stabilitas emulsi. Hasil evaluasi menunjukkan isolat protein biji jarak yang tersuksinilasi mempunyai sifat fungsional yang lebih baik dibanding isolat protein biji jarak native. Emulsi yang terbentuk dari isolat protein biji jarak tersuksinilasi adalah emulsi minyak dalam air. Lama reaksi suksinilasi yang menghasilkan sifat fungsional paling tinggi adalah 90 menit.

Kata kunci: *Jatropha curcas* L., bungkil, isolat protein, suksinilasi, emulsifier

Abstract

Protein isolates from defatted physic nut (*Jatropha curcas* L.) seed cake had suitable functional properties as emulsifier, but in neutral condition it had lack of solubility. Succinylation is needed to improve functional properties of protein isolate as emulsifier. The aim of this research was to evaluate effect of reaction time on the functional properties of succinylated physic nut protein isolate. In this experiment, succinylation was done using 0,1 g succinic anhydride/g protein for 30, 60, 90, 120 and 150 minutes. Degree of succinylation (DS) was determined by analyzing free amino group of protein using trinitrobenzene sulphonic acid (TNBS) method. The functional properties of protein isolates such as, solubility profile, emulsifying capacities, emulsifying stability and hidrophyl-lipophyl balance (HLB) were evaluated. The result showed that functional properties of succinylated physic nut protein isolate were higher than functional properties of native protein isolate. Succinylated of physic nut protein isolate could form oil in water emulsion type. Succinylated of physic nut protein isolate for 90 minutes could produce protein isolate which had the highest functional properties among the modified protein.

Keywords: *Jatropha curcas* L., seed cake, protein isolate, succinylation, emulsifier

Pendahuluan

Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) merupakan suatu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber minyak dan mempunyai potensi produksi skala besar. Tanaman ini dapat tumbuh pada tanah kurang subur dan bijinya mengandung sekitar 30-40% kandungan minyak (Veny H *et al*, 2009). Bagian tumbuhan ini, terutama bijinya mengandung *phorbol esters* yang membuatnya tidak enak dimakan dan beracun (Makkar *et al*, 1997) Hal ini yang menyebabkan jarak pagar digunakan sebagai *non-edible vegetable oil* yang dapat digunakan untuk pembuatan lilin, sabun dan produk lain. Penggunaannya yang paling luas adalah untuk pembuatan bahan bakar minyak (*biofuel*) untuk menanggulangi permasalahan bahan bakar fosil yang semakin menipis ketersediaannya.

Pemanfaatan minyak dari biji jarak pagar, menimbulkan limbah berupa bungkil biji jarak pagar. Selama ini pemanfaatan bungkil biji jarak pagar hanya sebagai pupuk organik dan pakan ternak (Jongschaap *et al*, 2007) Padahal kandungan protein pada biji jarak cukup tinggi. Menurut Abidah (2008) biji jarak pagar mempunyai kandungan protein 17,14%. Setelah proses ekstraksi minyak, kandungan protein di dalam bungkil mencapai 56,40–63,80% (Makkar *et al*, 1997) sedangkan menurut Prastowo (2009) kandungan protein yang ada pada bungkil biji jarak setelah ekstraksi solven adalah 57,73%. Hal ini memicu dilakukannya pemanfaatan protein dari bungkil biji jarak untuk digunakan lebih lanjut sebagai sumber protein yang mempunyai peran fungsional yang lebih baik sehingga mempunyai nilai ekonomi yang lebih tinggi.

Isolasi protein dapat ditempuh sebagai alternatif pemanfaatan protein dari biji jarak.

Produksi isolat protein saat ini berkembang menuju ke arah industri. Hal ini dikarenakan adanya perkembangan penggunaan dari produk ini di dalam pangan maupun non pangan (Sanchez-Vioque *et al*, 1999). Salah satu kegunaan dari isolat protein di dalam pangan adalah sebagai bahan campuran untuk meningkatkan nilai gizi suatu produk. Pemanfaatan isolat protein sangat tergantung pada sifat-sifat yang dimiliki oleh protein tersebut. Sebagai contoh, isolat protein dengan kapasitas pengikatan air dan minyak yang tinggi cocok digunakan dalam produk olahan daging dan roti, sedangkan isolat protein dengan kapasitas emulsi yang tinggi cocok digunakan untuk *salad dressing*, produk gula-gula (*confectionaries*), dan sup (Kanu, P.J. *et al*, 2007)

Isolat protein *native* banyak yang mempunyai sifat fungsional terbatas. Hal ini juga terjadi pada isolat protein biji jarak pagar sebagaimana telah dipelajari oleh Prastowo (2009) Isolat protein biji jarak mempunyai sifat fungsional yang baik pada suasana basa. Pada pH 9 kelarutan isolat protein mencapai 44,19%, kapasitas emulsi 56,84% dan stabilitas emulsi 99,43%. Bahkan pada pH 11 kelarutan isolat protein biji jarak mencapai 91,32%. Sementara pada pH 7, yang merupakan kondisi yang paling sering digunakan untuk proses produksi produk pangan, justru menunjukkan hasil yang kurang baik (kelarutan 26,28%, kapasitas emulsi 56,18% dan stabilitas emulsi 80,96%). Padahal menurut Prastowo (2009) isolat protein yang dihasilkan dari bungkil biji jarak mempunyai sifat fungsional yang sesuai digunakan untuk emulsifier. Isolat protein biji jarak diharapkan mempunyai sifat fungsional yang lebih baik, sehingga dapat digunakan lebih luas dalam industri pangan khususnya sebagai emulsifier. Modifikasi secara kimia seperti suksinilasi sering dilakukan untuk meningkatkan sifat fungsional dari protein (Lawal, 2005)

Modifikasi isolat protein menggunakan succinyl anhydride diharapkan dapat memperbaiki sifat fungsional dari protein. Setelah dilakukan modifikasi, perlu dilakukan karakterisasi sifat fungsional isolat protein tersuksinilasi, antara lain sifat kelarutan, *hydrophil-lipophil balance* (HLB), kapasitas pembentukan emulsi dan stabilitas emulsi. Hal ini dipandang penting dalam kaitannya dengan pemanfaatan di dalam produk pangan secara tepat.

Hingga saat ini, penelitian mengenai pengaruh lama suksinilasi isolat protein bungkil biji jarak pagar terhadap sifat-sifat fungsional (sifat kelarutan, *hydrophil-lipophil balance*/HLB, kapasitas pembentukan emulsi dan stabilitas emulsi) dari isolat protein yang dihasilkan belum tersedia. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai permasalahan tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh lama reaksi suksinilasi isolat protein bungkil biji jarak pagar terhadap sifat-sifat fungsional isolat protein bungkil biji jarak pagar. Sifat-sifat fungsional yang dikaji terdiri dari sifat kelarutan, *hydrophil-lipophil*

balance (HLB), kapasitas pembentukan emulsi dan stabilitas emulsi.

Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan, Laboratorium Kimia dan Biokimia Pangan, dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Bahan baku yang digunakan adalah isolat protein yang berasal dari bungkil biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) berukuran <40 mesh yang merupakan hasil samping dari proses ekstraksi minyak dari biji jarak pagar. Isolasi protein bungkil biji jarak pagar dilakukan dengan metode Jianmei *et al* (2007) yang telah disempurnakan oleh Prastowo (2009). Prinsip isolasi didasarkan pada pelarutan protein pada pH dengan kelarutan tertinggi yaitu pH 11 menggunakan NaOH 1N dan presipitasi protein pada pH 4 (titik isoelektris) menggunakan HCl 1 N. Isolat yang diperoleh selanjutnya dikeringkan menggunakan *freeze dryer*.

Isolat protein bungkil biji jarak pagar dimodifikasi menggunakan *succinic anhydride* (suksinilasi). Suksinilasi dilakukan berdasarkan metode Groninger (1973) yang dimodifikasi dimana konsentrasi *succinic anhydride* yang ditambahkan adalah 0,1 g *succinic anhydride*/g isolat protein bungkil biji jarak pagar kering. Lama waktu reaksi divariasikan yaitu 30, 60, 90, 120, dan 150 menit.

Derajat Suksinasi

Penentuan derajat suksinilasi isolat protein dilakukan berdasarkan metode *trinitrobenzene sulphonic acid* (TNBS) oleh Jens Adler Nissen (1979) yang ditera absorbansinya pada 340 nm.. Semakin banyak gugus amino yang bereaksi dengan *succinic anhydride* maka semakin sedikit gugus amino yang mampu bereaksi dengan reagen TNBS (Lawal, 2005). Derajat suksinilasi dihitung dengan membandingkan banyaknya penurunan gugus amino bebas isolat protein setelah suksinilasi terhadap banyaknya gugus amino bebas isolat protein *native*.

Isolat protein bungkil biji jarak pagar *native* dan tersuksinilasi selanjutnya dianalisis sifat fungsionalnya sebagai emulsifier. Sifat fungsional yang dianalisis terdiri atas sifat kelarutan, kapasitas dan stabilitas emulsi, serta nilai *hydrophile-lipophile balance* (HLB).

Kelarutan Protein

Kelarutan protein diketahui dengan cara menganalisis protein terlarut pada filtrat suspensi isolat protein pH 2-11 menggunakan metode Lowry (1951) dengan peneraan pada panjang gelombang 600 nm. Kapasitas pembentukan emulsi dan stabilitas emulsi dilakukan dengan metode Lqari *et al* (2002) yang telah dimodifikasi, dimana analisis dilakukan dengan melarutkan 2,5 g isolat protein kering sampai volume 50 ml. Analisis dilakukan pada filtrat suspensi protein pada pH 3, 7 dan 9 yang merepresentasikan kondisi asam, netral dan basa.

Nilai *hydrophile-lipophile balance* (HLB)

Penentuan nilai HLB dilakukan dengan metode Janus *et al* (2006) yang telah dimodifikasi dimana pengukuran emulsi pada sampel dilakukan dengan menambahkan 5 ml minyak goreng ke dalam 5 ml larutan protein yang mempunyai konsentrasi 5 mg protein/ml larutan. Standar yang digunakan adalah formula yang dibuat dari Tween 80 dan Span 80. Nilai HLB isolat protein dihitung dengan cara *plotting* terhadap standar yang telah dibuat dengan pendekatan volume non emulsi.

Data yang diperoleh diolah menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) yang dilakukan dengan uji banding menggunakan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) pada tingkat kepercayaan 5% (Montgomery, 2005)

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh Lama Reaksi

Gambar 1 adalah derajat suksinilasi isolat protein jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) pada lama reaksi suksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit menggunakan 0,1 g *succinic anhydride*/g protein. Berdasarkan Gambar 1, dapat dilihat bahwa derajat suksinilasi isolat protein biji jarak pagar meningkat signifikan dengan semakin lamanya waktu reaksi suksinilasi ($P < 0,05$). Hasil tersebut sesuai dengan hasil suksinilasi pada pati jagung dan amaranth (Bandhari dan Singhal, 2002) dimana semakin lama waktu reaksi suksinilasi derajat suksinilasinya juga semakin meningkat. Hal ini disebabkan peningkatan laju dan waktu kontak *succinic anhydride* dengan pati yang akan membentuk *succinyl-pyridinium intermediat*.

Waktu kontak yang semakin lama menyebabkan semakin banyak *succinic anhydride* yang dapat bereaksi dengan protein, atau lebih spesifik terhadap gugus ϵ -amino lisin yang merupakan gugus yang paling banyak tersuksinilasi (Lawal, 2005). Secara umum, reaksi kimia akan berlangsung terus menerus hingga tercapainya titik ekuilibrium (Anonim, 2010). Sehingga, reaksi suksinilasi akan terjadi terus-menerus hingga mencapai ekuilibrium yang teridentifikasi jika kurva sudah mendatar.

Berdasarkan Gambar 1 terlihat bahwa pada menit ke-150 waktu suksinilasi, reaksi suksinilasi belum mencapai ekuilibrium karena masih mengalami peningkatan derajat suksinilasi. Namun dari menit ke-90 ke menit 120 dan menit 120 ke menit 150 presentase kenaikan derajat suksinilasinya kecil (5,10% dan 4,86%) dibandingkan kenaikan dari menit 30 ke menit 60 dan dari menit 60 ke menit 90 (22,68% dan 10,55%). Mengecilnya derajat suksinilasi ini dapat terjadi karena pada menit ke-150, reaksi suksinilasi sudah mendekati titik ekuilibrium. Kemungkinan jika waktu suksinilasi dibuat lebih lama, kurva derajat suksinilasi tidak akan membentuk garis linier lagi melainkan garis mendatar. Hal tersebut juga terjadi pada derajat suksinilasi pati amaranth dan pati jagung dimana setelah suksinilasi selama lima jam, tidak terjadi peningkatan yang signifikan derajat suksinilasi pati-pati tersebut (Bandhari dan Singhal, 2002)

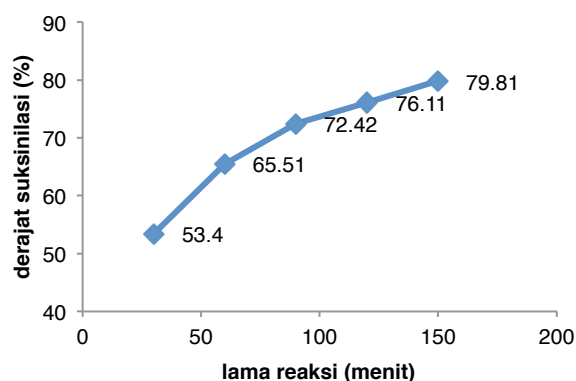
Kelarutan Isolat Protein

Kelarutan isolat protein *native* dan isolat protein tersuksinilasi tergantung pada pH. Pada Gambar 2 ditampilkan kelarutan isolat protein *native* dan tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada berbagai pH. Berdasarkan Gambar 2, dapat dilihat secara keseluruhan bahwa kelarutan isolat protein meningkat dengan meningkatnya lama waktu suksinilasi. Pada pH 11 isolat protein *native* dan tersuksinilasi mempunyai kelarutan paling tinggi. Titik isoelektris isolat protein *native* dan isolat protein tersuksinilasi selama 30 menit berada pada pH 5. Isolat protein tersuksinilasi selama 60, 90, 120 dan 150 menit mempunyai titik isoelektris pada kisaran pH 4. Titik isoelektris isolat protein *native* lebih tinggi dibanding titik isoelektris isolat protein tersuksinilasi. Nilai kelarutan pada titik isoelektris untuk isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih kecil, lebih tinggi dibanding isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih tinggi. Hal ini juga terjadi pada *locust bean* (Lawal *et al*, 2007), gluten gandum (Barber *et al*, 1982); protein lablab (Lawal, 2005); *mucuna bean* (Adebawale, 2008) dan *soy protein* (Franzen *et al*, 1976). Penurunan titik isoelektris terjadi karena penurunan muatan positif yang terdapat pada gugus NH_2 akibat suksinilasi. Pada pH 4 isolat protein sudah tidak memiliki muatan sehingga kelarutannya rendah, sedangkan isolat protein *native* kelarutannya lebih tinggi karena masih bermuatan positif. Isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih rendah juga mempunyai muatan lebih positif dibanding isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih tinggi pada pH 4. Oleh karena itu, nilai kelarutan isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih rendah menjadi lebih tinggi dibanding isolat protein dengan derajat suksinilasi lebih tinggi (Lawal *et al*, 2007)

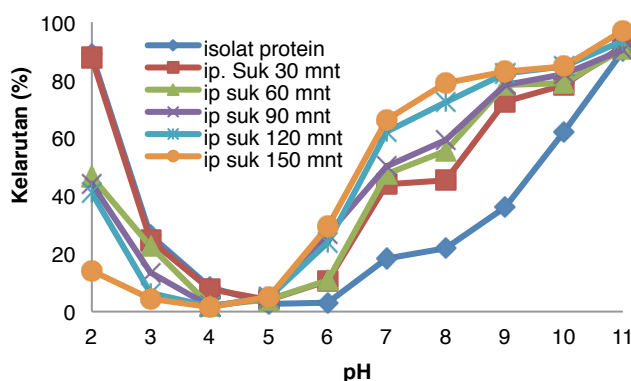
Selanjutnya pada pH yang lebih tinggi dari pH isoelektris, kelarutan protein meningkat dengan meningkatnya pH dan lama reaksi suksinilasi. Hal ini juga terjadi pada *Brazil nut kernel globulin* (Ramos *et al*, 2005) dan *lentil globulin* (Bora, 2002). Peningkatan muatan negatif lisin sebagai akibat dari perubahan muatan positif gugus amin lisin dengan muatan negatif gugus karboksil dari *succinic anhydride*, menghasilkan peningkatan interaksi terhadap air pada pH netral dan alkali (Franzen *et al*, 1976). Perubahan tersebut menyebabkan membukanya rantai polipeptida protein yang disebabkan tolak-menolak antara gugus karboksil asam amino yang telah mengalami suksinilasi dengan gugus karboksil asam amino lain. Berkurangnya interaksi antara protein-protein dan peningkatan interaksi protein-air menghasilkan peningkatan kelarutan (Lawal *et al*, 2007). Besarnya muatan negatif sebanding dengan derajat suksinilasi, sehingga peningkatan kelarutan akan meningkat dengan peningkatan lama reaksi dan derajat suksinilasi pada pH diatas isoelektris hingga pH 11.

Kelarutan isolat protein menurun dari pH 2 hingga titik isoelektris. Sementara kelarutan isolat protein menurun dengan meningkatnya lama reaksi suksinilasi pada kondisi asam hingga tercapainya titik isoelektris. Penurunan kelarutan protein tersuksinilasi

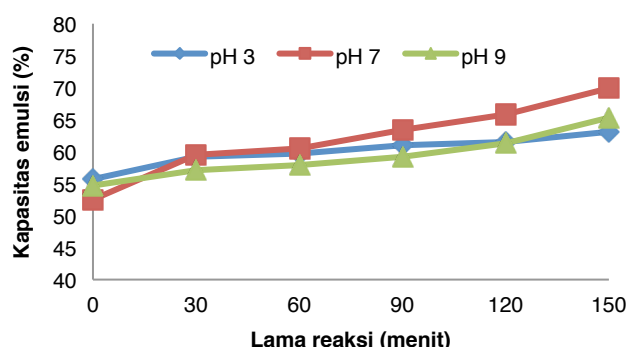
di bawah pH isoelektris dibandingkan dengan isolat protein *native* terjadi karena penurunan muatan positif yang terdapat pada gugus NH_2 akibat suksinilasi dan kenyataan bahwa gugus karboksil berada pada bentuk tak terdisosiasi pada pH tersebut. Keadaan ini menyebabkan terjadinya agregasi sehingga kelarutannya rendah (Lawal *et al.*, 2007).



Gambar 1. Derajat suksinilasi isolat protein jarak pagar pada lama reaksi suksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit menggunakan 0,1 g *succinic anhydride*/g protein dengan tiga kali ulangan



Gambar 2. Kelarutan (%) isolat protein jarak pagar *native* dan tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada berbagai pH



Gambar 3. Kapasitas pembentukan emulsi (%) isolat protein jarak pagar *native* dan tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada pH 3, pH 7 dan pH 9

Kapasitas Pembentukan Emulsi

Kapasitas pembentukan emulsi merupakan fungsi dari pH dan juga derajat suksinilasi. Pada Gambar 3 ditampilkan kapasitas pembentukan emulsi

isolat protein jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) *native* dan tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada pH 3, pH 7 dan pH 9.

Berdasarkan Gambar 3, dapat dilihat bahwa kapasitas emulsi meningkat signifikan ($p < 0,05$) dengan meningkatnya lama suksinilasi yang berarti juga meningkatnya derajat suksinilasi. Peningkatan kapasitas emulsi setelah suksinilasi merupakan dampak dari peningkatan kelarutan pada pH 7. Suksinilasi juga menyebabkan tereksposnya gugus fungsional yang sebelumnya tersembunyi di bawah matrik protein dan hal ini akan meningkatkan interaksi interfase protein-minyak (Ma *et al.*, 1987). Hasil yang sama juga telah dikemukakan untuk protein oat (Ma *et al.*, 1987); tepung biji kapas (Childs *et al.*, 1976) dan *lablab bean* (Lawal, 2005).

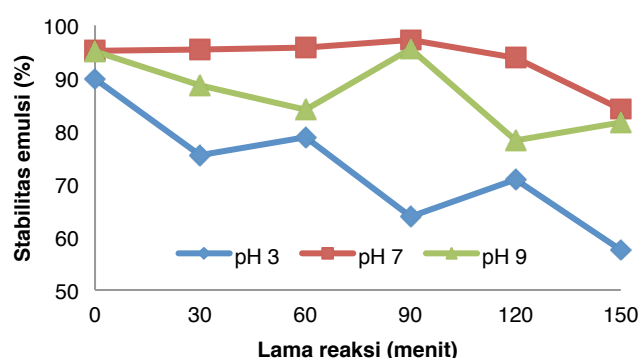
Kapasitas emulsi isolat protein *native* paling tinggi berada pada pH 3 kemudian pH 9 dan paling rendah pH 7. Pada isolat protein tersuksinilasi, kapasitas emulsi paling tinggi berada pada pH 7 kemudian pH 3 dan paling rendah pada pH 9. Kapasitas emulsi tidak berbeda secara signifikan pada pH 3, pH 7 dan pH 9 ($p > 0,05$). Kapasitas emulsi ini berkaitan dengan kelarutan protein pada berbagai pH. Pada isolat protein tersuksinilasi, kenaikan aktifitas emulsi dari pH 3 ke pH 7 berkaitan dengan kelarutan protein di pH 7 yang lebih tinggi dari pH 3. Kelarutan yang tinggi terjadi karena tolak-menolak antar asam amino akibat suksinilasi. Tolak-menolak tersebut menyebabkan gugus amin menjadi lebih terpapar karena terjadi pembukaan lipatan protein. Bertambahnya gugus karboksil akibat suksinilasi menyebabkan kenaikan muatan negatif pada isolat protein dan akan meningkatkan kelarutan isolat protein. Meningkatnya ekspos gugus amin yang merupakan sisi hidrofobik pada protein dan meningkatnya interaksi protein-air akan meningkatkan kapasitas emulsi (Lawal, 2005). Mekanisme protein dalam membentuk emulsi terjadi dimana sisi hidrofobik (gugus amin) berada di sisi dalam sementara sisi luar adalah sisi hidrofilik (gugus karboksil). Sementara pada pH 7 ke pH 9 terjadi penurunan walau tidak secara signifikan. Penurunan ini dapat terjadi karena kelarutan yang terlalu tinggi mengakibatkan interaksi yang besar antara protein-air dan tak sebanding dengan interaksi protein-minyak yang lebih sedikit dan kurang terbentuk lapisan elastis interfase air-minyak. Sehingga emulsi yang terbentuk volumenya lebih kecil daripada di pH 7.

Stabilitas Emulsi

Stabilitas emulsi berkaitan dengan pH karena berkaitan juga dengan kelarutan. Secara keseluruhan stabilitas emulsi isolat biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) menurun dengan meningkatnya waktu suksinilasi. Berdasarkan Gambar 4, dengan semakin lamanya waktu suksinilasi ternyata menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) stabilitas emulsi dari isolat protein *native* dan tersuksinilasi (30-90 menit). Selanjutnya stabilitas emulsi isolat protein biji jarak pagar menurun signifikan ($p < 0,05$) dari 90-150 menit. Hasil itu juga terjadi pada isolat protein oat

(Mirmoghtadaie *et al*, 2009). Walaupun terjadi peningkatan pada kelarutan dengan meningkatnya derajat suksinilasi, peningkatan muatan yang berlebih menurunkan interaksi protein-protein dan mencegah terbentuknya lapisan elastis pada interfase air dan minyak.

Interaksi protein-protein yang menurun menyebabkan berkurangnya jumlah peptida ukuran besar. Akibatnya, terbentuk lapisan interfase pada emulsi yang encer dan kurang stabil. Droplet-droplet emulsi juga menjadi kurang stabil (Chan *et al*, 2007). Hal ini tidak sesuai dengan penelitian pada *lablab bean* (El-Adawy, 2000), *mung bean* (Lawal, 2005), dan *bambarra groundnut* (Lawal *et al*, 2000) dimana dengan meningkatnya derajat suksinilasi, stabilitas emulsi isolat protein juga meningkat.



Gambar 4. Stabilitas emulsi (%) isolat protein jarak pagar *native* dan tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit pada pH 3, pH 7 dan pH 9

Kandungan asam amino pada isolat protein memiliki peranan pada interaksi hidrofobik dan hidrofilik isolat protein. Menurut Apiwatanapiwat, *et al* (2009), biji *Jarak pagar* lebih banyak kandungan asam amino polar (28,57 mg/g protein) dibanding non polar (24,22 mg/g protein). Fakta ini menyebabkan lebih banyak terjadi interaksi hidrofilik dibanding hidrofobik sehingga kurang terbentuk lapisan interfase yang kuat pada emulsi (Mirmoghtadaie *et al*, 2009).

Pada isolat protein tersuksinilasi dan *native*, stabilitas emulsi paling tinggi berada pada pH 7 kemudian pH 9 dan paling rendah pada pH 3. Stabilitas emulsi berkaitan dengan kelarutan protein di berbagai pH. Pada isolat protein tersuksinilasi, kenaikan aktifitas emulsi dari pH 3 ke pH 7 berkaitan dengan kelarutan protein di pH 7 yang lebih tinggi dari pH 3. Sementara pada pH 7 ke pH 9 terjadi penurunan stabilitas yang dapat disebabkan kelarutan yang terlalu tinggi. Interaksi yang besar antara protein-air tak sebanding dengan interaksi protein-minyak yang lebih sedikit dan kurang terbentuk lapisan elastis interfase air-minyak sehingga emulsi yang terbentuk volumenya lebih kecil daripada di pH 7.

Nilai *hydrophile/lipophile balance*

Tabel 1 memberikan informasi nilai *hydrophile/lipophile balance* (HLB) isolat protein biji jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) *native* dan

tersuksinilasi. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa isolat protein biji jarak pagar *native* dan tersuksinilasi selama 30, 60, 90, 120 dan 150 menit mempunyai nilai HLB berbeda-beda. Isolat protein yang mempunyai nilai HLB antara 8-18 akan menghasilkan tipe emulsi minyak di dalam air (O/W). Semua isolat protein bungkil biji jarak pagar rendah lemak baik yang tersuksinilasi maupun *native* mempunyai tipe emulsi O/W. Oleh karena itu, isolat protein bungkil biji jarak pagar dapat digunakan sebagai pengemulsi dari produk-produk pangan yang mempunyai emulsi minyak di dalam air, seperti es krim, susu dan krim untuk kopi (Anonim, 1980).

Menurut Apiwatanapiwat *et al* (2009), biji jarak pagar lebih banyak mengandung asam amino polar dibanding non polar yang menyebabkan lebih banyak terjadi interaksi hidrofilik daripada hidrofobik. Sehingga, tipe emulsi yang terbentuk jika menggunakan emulsifier isolat protein biji jarak pagar tersuksinilasi adalah emulsi minyak dalam air. Pada emulsi minyak dalam air, fase kontinyu adalah air sementara fase diskontinyu adalah minyak.

Tabel 1. Nilai *hydrophile/lipophile balance* (HLB) isolat protein biji jarak pagar serta tersuksinilasi 30, 60, 90, 120 dan 150 menit

No	Isolat protein	Nilai HLB (%) pada pH		
		3	7	9
1	<i>native</i>	>15	12,86-15	>15
2	suksinilasi 30 menit	>15	>15	>15
3	suksinilasi 60 menit	>15	>15	>15
4	suksinilasi 90 menit	>15	10,72-12,86	>15
5	suksinilasi 120 menit	>15	>15	>15
6	suksinilasi 150 menit	>15	>15	>15

Isolat protein biji jarak pagar *native* dan tersuksinilasi mempunyai nilai HLB>8. Menurut McClements (1999) droplet emulsi yang dibentuk oleh surfaktan yang mempunyai nilai HLB yang ekstrim (>8) mudah mengalami *coalescence*. Hal ini disebabkan pada nilai HLB yang sangat rendah atau sangat tinggi, sebuah surfaktan mempunyai semacam *surface activity* yang rendah yang tidak dapat terkumpul secara cukup pada permukaan droplet. Oleh karena itu sistem emulsi ini tidak dapat bertahan terhadap *coalescence*.

Nilai HLB pada isolat protein *native* dan isolat protein tersuksinilasi pH 7 ada di bawah 15. Stabilitas emulsi yang maksimal untuk emulsi minyak di dalam air terbentuk jika menggunakan surfaktan yang mempunyai nilai HLB antara 10-12 (McClements, 1999). Hal ini dikarenakan surfaktan tidak menurunkan tegangan antarmuka terlalu rendah, sehingga droplet emulsi tidak bisa secara mudah dirusak. Nilai HLB isolat protein *native* dan isolat protein tersuksinilasi pH 7 lebih rendah daripada isolat protein yang lain. Sehingga telah sesuai jika stabilitas emulsi yang terbentuk lebih tinggi dibanding yang lain, yaitu 97,18% pada isolat protein tersuksinilasi 90 menit di pH 7 dan 95,23% pada isolat protein pH 7.

Kesimpulan

Perbandingan antara sifat fungsional isolat protein *native* dan isolat protein tersuksinilasi menunjukkan bahwa suksinilasi isolat protein biji jarak pagar dapat meningkatkan sifat fungsional isolat protein sehingga dapat dimanfaatkan sebagai emulsifier pada emulsi minyak dalam air. Reaksi suksinilasi yang menghasilkan sifat fungsional paling tinggi adalah selama 90 menit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih kepada Prof (R). Dr. Gono Semiadi atas bimbingan serta arahan dalam penulisan artikel ini.

Daftar Pustaka

- Abidah, N. 2008. Sintesis Metil Ester Dari Minyak Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Menggunakan Freeze Dried Lipase Kecambah Jarak Pagar. Tesis, Fakultas Teknologi Pertanian. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Adebowale, Y.A. dan Adebowale, K.O. 2008. Emulsifying Property of Mucuna Flour and Protein Isolates. *Journal of Food Technology*. 6 (2): 66-79.
- Anonim. 1980. The HLB system a Time Saving Guide to Emulsifier Selection. Delaware: ICI Americas Inc.
- Anonim. 2010. Kinetic of the Chemical Reaction. http://sci.informika.ru/text/database/chemy/Enu/Dat a/Ch1_5.html#_CHEMICAL_EQUILIBRIUM. Diakses tanggal 3 Juni 2015.
- Apiwatanapiwat, W., Vaithanomsat, P., Smokliang, P. dan Malapant, T. 2009. Optimization of Protein Hydrolysate Production Process from *Jatropha curcas* Cake. *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*. 41: 2070-3740.
- Bandhari, P.N. dan Singhal, R.S. 2002. Studies on the Optimisation of Preparation of Succinate Derivatives form Corn and Amaranth Straches. *Carbohydrate Polymers*. 47: 277-283
- Barber K.J. dan Warthesen, J.J. 1982. Some Functional Properties of Acylated Wheat *Gluten*. *J Agric Food Chem*. 30: 930-934
- Bora, P.S. 2002. Functional Properties of Native and Succinylated Lentil (*Lens culinaris*) Globulins. *Food Chemistry*. 77: 171-176.
- Chan, W. M. dan Ma, C. Y. 1999. Acid Modification of Proteins from Soymilk Residue (*Okara*). *Food Research International*. 32: 119-127.
- Childs, E.A., dan Park, K.K. 1976. Functional Properties of Acylated Glandless Cotton Seed Flour. *Journal of Food Science*. 41: 713-714.
- El-Adawy, T.A. 2000. Functional Properties and Nutritional Quality of Acetylated and Succinylated Mung Bean Protein Isolate. *Food Chemistry*. 70: 83-91
- Franzen, K.L. dan Kinsella, J.E. 1976. Functional Properties of Succinylated and Acetylated Soy *Protein*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 24: 788-795.
- Groninger, H.S. 1973. Preparation and Properties of Succinylated Fish Myofibrillar Protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 21: 978-981.
- Janus, P.F., Fernandes, L.L., Formigo, F.R., Reis, M.F., Junior, T.N., Soares, L.A.L., dan Egito, S.T., 2006. Micro-emultocrit Technique: a Valuable Tool for Determination of Critical HLB Value of Emulsions. *AAPS PharmSciTech*. 7(1):E146-E152
- Jens Adler-Nissen. 1979. Determination of the Degree of Hydrolysis of Food Protein Hydrolysates by Trinitrobenzenesulfonic Acid. *J. Agric. Food Chem*. 27 (6): 1256-1262
- Jianmei, Y., Ahmedna, M. dan Goktepe, I. 2007. Peanut Protein Concentrate: Production and Functional Properties as Affected by Processing. *Food Chemistry*. 103: 121-129.
- Jongschaap, R.E.E., Corre, W.J., Bindraban, P.S. dan Brandenburg, W.A. 2007. *Claims and Facts on Jatropha curcas* L. Wageningen: Plant Research International B.V.
- Kanu, P.J., Kerui, Z., Ming, Z.H., Haifeng, Q., Kanu, J.B. dan Kexue, Z., 2007. Sesame Protein 11: Functional Properties of Sesame (*Sesamum indicum* L.) Protein Isolates as Influenced by pH, Temperature, Time and Ratio Flour to Water During Its Production. *Asian Journal of Biotechnology*. 2 (5): 289-301.
- Lawal, O.S., 2005. Functionality of Native and Succinylated Lablab Bean (*Lablab purpureus*) Protein Concentrate. *Food Hydrocolloids*. 19: 63-72.
- Lawal, O.S., Adebowale, K.O. dan Adebowale, Y.A. 2007. Functional Properties of Native and Chemically Modified Protein Concentrates from Bambarra Groundnut. *Food Research International*. 40: 1003-1011
- Lawal, O.S. dan Dawodu, M.O. 2007. Maleic Anhydride Derivatives of a Protein Isolate: Preparation and Functional Evaluation. *Eur Food Res Technol*. 226: 187-198.
- Lowry, O.H., Roserburgh, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1951. Protein Measurement With the Folin-Phenol Reagents. *J. Biol. Chem*. 193:265-275
- Lqari, H., Vioque, J. Pedroche, J. dan Millan, F. 2002. *Lupinus angustifolius* Protein Isolates: Chemical Composition, Functional Properties and Protein Characterization. *Journal of Food Chemistry*. 76: 349-356.
- Ma, C.Y. dan Wood, D.F. 1987. Functional Properties of Oat Proteins Modified by Acylation, Trypsin Hydrolysis or Linoleate Treatment. *Journal of American Oil Chemist Society*. 64: 1726-1731.
- Makkar, H.P.S., Becker, K., Sporer, F. dan Wink, M. 1997. Studies on Nutritive Potential and Toxic Constituents of Different Provenances of *Jatropha curcas*. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 45: 3152-3157.
- McClements, D. J., 1999. Food Emulsions Principles, Practice, and Techniques. New York: CRC Press.
- Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M. dan Shahedi, M. 2009. Effects of Succinylation and Deamidation on

- Functional Properties of Oat Protein Isolate. Food Chemistry. 114: 127–131.
- Montgomery, D.C. 2005. Design and analysis of experiments. Sixth Edition. Canada: John Wiley & Sons, Inc.
- Prastowo, Y.B. 2009. Isolasi dan Karakterisasi Sifat Fungsional Protein dari Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.). Skripsi, Fakultas Teknologi Pertanian. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. Gadjah Mada.
- Ramos, C.M.P. dan Bora, P.S. 2005. Functionality of Succinylated Brazil Nut (*Bertholletia excelsa* HBK) Kernel Globulin. Plant Foods for Human Nutrition. 60: 1–6.
- Sanchez-Vioque, R. 1999. Protein Isolates from Chickpea (*Cicer arietinum* L.): Chemical Composition, Functional Properties and Protein Characterization. Food Chemistry. 64: 237-243.
- Veny, H., Baroutian, S., Aroua, M.K., Hasan, M., Raman, A.A. dan Sulaiman, N.M.N., 2009. Density of *Jatropha curcas* Seed Oil and its Methyl Esters: Measurement and Estimations. Int J Thermophys. 30: 529–541.